

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

НУКЛЕАЗНАЯ, ОКСИДОРЕДУКТАЗНАЯ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА А

Генералова А.Г., Липец А.И.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Появление поликлональных абзимов (или каталитических антител, АТ) является характерным признаком большинства аутоиммунных и ряда инфекционных заболеваний. По мнению многих исследователей, абзимная активность является одним из перспективных новых диагностических маркеров патологических процессов [1].

Основные эксперименты по определению абзимной активности обычно выполняются с иммуноглобулинами класса G, что определяется возможностью быстрого получения высокочистых препаратов IgG на недорогих аффинных матрицах (сорбенты с протеином А или G). Активность же иммуноглобулинов других классов изучена пока недостаточно. В этом отношении остается неисследованной каталитическая активность поликлональных IgA, несмотря на возможность обнаружения высокоактивных IgA-абзимов при многих патологических состояниях. При этом общее содержание IgA в секретах слизистых оболочек превышает содержание иммуноглобулинов класса G.

Исходя из вышеизложенного, **целью** настоящей работы стало определение оксидоредуктазной, протеолитической и нуклеазной активности иммуноглобулинов класса А.

Материал и методы. В работе были использованы ДНК тимуса теленка, тетраметилбензидин (ТМБ), субстраты для определения протеолитической активности (эластазной, катепсиноподобной, амидазной) Z-Arg-Arg-р-нитроанилид, Glp-Pro-Val-р-нитроанилид, N-сукцинил-Ala-Ala-Pro-Phe-р-нитроанилид, Gly-Phe-р-нитроанилид, бензоил-DL-аргинин-р-нитроанилид (БАПНА), реагенты для электрофореза в полиакриламидном геле (ПАГ) – все пр-ва Sigma (США), агароза, конъюгированная с АТ против IgA человека.

Материалом для исследования послужили сыворотки и выделенные из них иммуноглобулины класса А 14 пациентов с системной красной волчанкой (СКВ), находившихся на стационарном лечении в УЗ «Витебская областная клиническая больница»; образцы ротовой жидкости и выделенные из них IgA 55 пациентов с хроническим маргинальным периодонтитом, находившихся на лечении в УЗ «Витебская областная стоматологическая поликлиника», а также 31 проба ротовой жидкости и IgA от группы лиц без патологии периодонта.

Очистка поликлональных IgA из сыворотки крови и ротовой жидкости проводилась с помощью аффинной хроматографии на агарозе, конъюгированной с антителами против тяжелой цепи общих IgA человека. Различные виды абзимной активности определяли, как описано в [1]. Для всех видов активности помимо пероксидазной учет реакций проводили на многоканальном фотометре при двухволновом измерении (405 нм и 620 нм). Пероксидазную реакцию регистрировали при двухволновом измерении на 450 и 620 нм, соответственно.

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием набора пакетов прикладных статистических программ.

Результаты и обсуждение. По данным электрофореза в ПАГ была установлена гомогенность выделенных препаратов IgA. Далее проводилась сравнительная характеристика абзимной активности IgA, выделенных из сывороток крови и ротовой жидкости.

Во всех группах обнаружена лишь минимальная активность цистеиновых протеиназ (катепсина В и С), причем активности катепсина С в 2-х группах из 3-х выявлено не было. Активности сериновых протеиназ (БАПНА-амидаза, катепсин G и эластаза) распределялись по-разному. БАПНА-амидазная активность в всех группах была минимальной. В свою очередь, эластазная активность IgA ротовой жидкости была максимальной у пациентов с хроническим периодонтитом, достоверно превышая значения контрольной группы; при этом такой вид активности полностью отсутствовал в IgA пациентов СКВ.

Сходный профиль активности был характерен и для пероксидазных IgA (отсутствие ее в сывороточных IgA пациентов СКВ и максимальный уровень у пациентов с хроническим периодонтитом). Каталазная активность во всех группах была невыраженной, наибольшие уровни зарегистрированы в сывороточных IgA пациентов СКВ.

ДНКазная активность была максимальной в IgA ротовой жидкости пациентов хроническим периодонтитом, достоверно превышая уровни контрольной группы и уровни сывороточных IgA при СКВ.

Проведенные кинетические эксперименты показали, что кинетика абзимного протеолиза имеет линейный характер. Последнее типично для ферментативных реакций при полном насыщении активных центров катализатора. Кинетика пероксидазной абзимной реакции близка к линейной на первых 15-20 минутах инкубации ферментно-субстратной смеси, затем процесс замедляется.

Было изучено влияние pH на основные типы реакций, катализируемых абзимами. Обнаружено, что изученный IgA-образец с активностью катепсина G имеет один оптимум pH в щелочной зоне, что характерно для сериновых протеаз. Другие результаты получены для препаратов IgA с эластазной и пероксидазной активностью – установлены 2 максимума pH в слабокислой (pH 6,0) и щелочной зонах, что не соответствует активности природных эластаз. Аналогичная зависимость была показана нами и для образца IgA с пероксидазной активностью – реакция имела 2 явных оптимума при pH 5,0 и 7,0. Эти данные позволяют хотя бы частично объяснить результаты клинических исследований абзимной активности, где препараты, выделенные от разных пациентов с одной и той же патологией или даже у одного пациента в разные сроки заболевания могли существенно отличаться по уровню активности и условиям протекания реакций.

Анализ результатов позволяет заключить, что абзимная активность IgA ротовой жидкости имеет более высокий уровень, чем активность сывороточных IgA пациентов СКВ. В свою очередь, удельная абзимная активность IgA, выделенных из любого источника, значительно превышает удельную абзимную активность поликлональных IgG. При использовании одних и тех же методов исследования для регистрации абзимной активности концентрация IgG находилась в пределах 0,5-1,0 мг/мл, тогда как концентрация IgA составляла 50-100 мкг/мл. Тем самым активность ряда образцов IgA превышает удельную активность IgG не менее чем на порядок.

Выводы.

1. Абзимные IgA, выделенные из ротовой жидкости пациентов с хроническим периодонтитом, обладают максимальной эластазной, пероксидазной и ДНКазной активностью, которая достоверно ($p < 0,01-0,001$) превышает активность IgA ротовой жидкости здоровых лиц и IgA сывороток пациентов СКВ.

4. Для абзимных IgA с пероксидажной и эластазной активностью характерна гетерогенность по скорости каталитических реакций и по зависимости реакций от pH среды.

Литература

1. Абзимная активность поликлональных иммуноглобулинов класса A / И.И. Генералов [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2014. – 13(4). – С. 42-47.

2. Каталитические аутоантитела как новый молекулярный инструмент в ревматоидной практике / А.Н. Хитров [и др.] // Тер. арх. – 2006. – №6. – С.59-66.

САНИТАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СРЕДСТВА «ЛЕСНОЕ»

Горовенко М.В., Шапиро Ю.О.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Актуальность. Природно-климатические условия в Республике Беларусь являются идеальными для развития паразитов животных и человека. Широкое распространение кишечных паразитов способствует интенсивному обсеменению объектов окружающей среды их возбудителями, что в свою очередь создает условия для высокого риска новых заражений [1,2]. Передача заразной болезни (в том числе гельминтозов) происходит в определенном поэтапном (эстафетном) порядке, находясь при этом под воздействием разнообразных факторов передачи. Все это составляет механизм передачи [3].

Цель - провести оценку эффективности средства для санации животноводческих объектов «Лесное» при обработке помещений для содержания крупного рогатого скота.

Материал и методы. Для оценки эффективности средства подбирались 2 аналогичных помещения. Первое было контролем, во втором полы обрабатывались разработанным средством «Лесное» в дозе 100 г/м².

Обработку помещений проводили на протяжении 2 месяцев из расчета 3 раза в неделю.

Результаты и обсуждение. Установлено, что после двухнедельного применения средства «Лесное» уровень аммиака в помещении снизился в 2,5 раза по сравнению с контролем, а через 6 недель - в 1,75 раза.

В конце исследований, после 2-х месяцев применения изучаемого препарата, уровень аммиака в воздухе был на 64,0 % ниже, чем в контрольном помещении. Установлено резкое снижение количества кишечной палочки (E.Coli) в смывах с пола. Так, через 2 недели после применения адсорбента количество кишечной палочки на полу снизилось на 56,9 %, а через 4 недели - в 14,4 раза по сравнению с началом опыта.

Установлена высокая микробная загрязненность поверхности пола в помещениях. Так в начале опыта она составляла 512-644 КОЕ/100 см² пола. Использование средства «Лесное» позволило снизить общую контаминацию через две недели в 2,5 раза, а через 8 недель - в 6,85 раз. Отмечено, что поверхность кормового стола также значительно загрязнена микроорганизмами. Так, в начале исследований она составляла 364-380 КОЕ/100 см² кормового стола. Однако использование разработанного нами средства «Лесное» позволило снизить микробную загрязненность на 38,5-76,4 %. Особенно высокая эффективность средства «Лесное» отмечена через 2 недели его применения.